



Biochemisches-Effektmonitoring bei Belastung mit Umweltschadstoffen

Umweltbelastungen können Störungen des Gleichgewichtes zwischen Radikalbildung und Radikalabbau verursachen. Vermehrtes Auftreten von freien Radikalen kann zu äußerst schädigenden Wirkungen auf zellulärer Ebene führen. Man spricht in diesen Fällen von „Oxidativem Stress“. Folgende Krankheiten und Prozesse gehen mit erhöhten Radikalkonzentrationen einher:

Altern
Cardiovaskuläre Erkrankungen
Gastrointestinale Erkrankungen
Hautkrankheiten
Immunologische Erkrankungen
Infektionskrankheiten
Infertilität
Karzinogenese
Lebererkrankungen
Mutagenese
Neurologische Erkrankungen
Rheumatische Erkrankungen
Umweltschadstoffe
Ver- und Entgiftungen

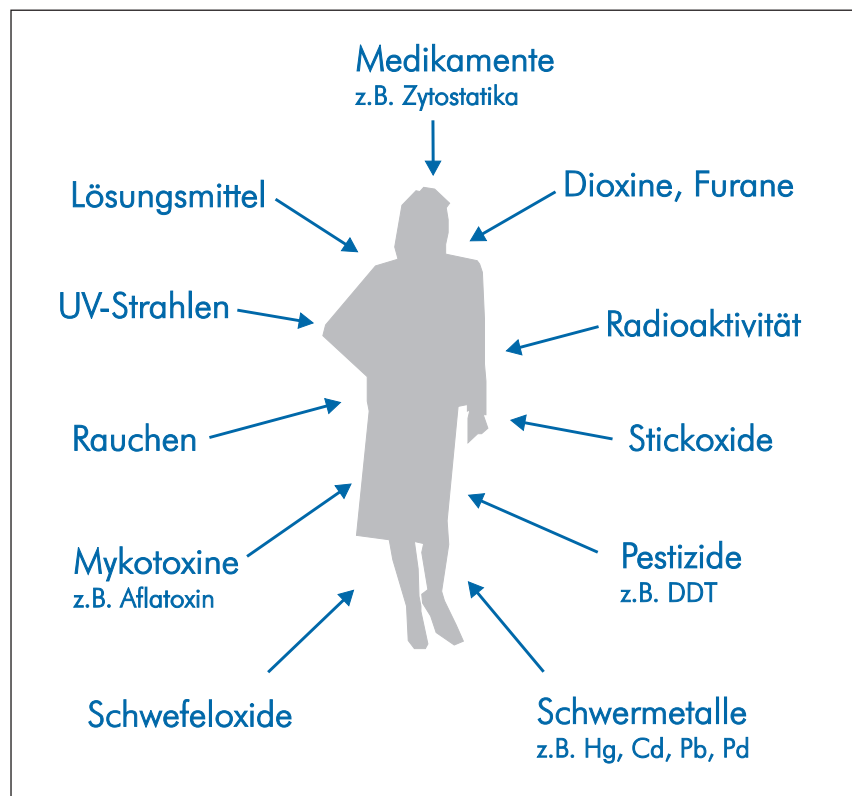


Abb.1: Ursachen freier Radikale

Diagnostische Möglichkeiten zur Abklärung der oxidativen Belastung sind:

Belastungsparameter

Malondialdehyd
Mercaptursäuren
8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin

Entgiftungskapazität

Superoxyddismutase
Glutathionperoxidase
Glutathion-S-Transferase
P 450-Cytochromoxidase
(Coffein-Speichel-Test)
Glutathion

Antioxidative Versorgung

Vitamin E
Vitamin C
β-Carotin
Coenzym Q₁₀
Selen

Erläuterungen zu den einzelnen Analysen finden Sie auf den folgenden Seiten.

Belastungsparameter

Malondialdehyd

Malondialdehyd entsteht bei der Lipidperoxidation und kann als Maß für die Produktion von freien Radikalen und oxidativen Schädigungen des Organismus herangezogen werden. Nach Reaktion mit Thiobarbitursäure und HPLC-Trennung wird der Malondialdehyd fluorometrisch bestimmt.

Benötigt werden 0,1 ml frisches oder tiefgefrorenes Heparin- bzw. EDTA-Plasma.

Normalwerte: < 1,0 µMol/l.

Mercaptursäuren

Mercaptursäure-Derivate werden als Endprodukte bei der Detoxikation von Xenobiotika (organische Chemikalien, Insektizide, Herbizide, Fungizide) mit dem Urin ausgeschieden. Der Gehalt an Mercaptursäuren im Urin kann als Maß für die Belastung des Organismus mit diesen toxischen Substanzen verwendet werden. Der Gesamtgehalt an Sulfhydryl-Gruppen wird nach Hydrolyse des Urins und Reaktion mit 5,5'-Dithio-bis-(2-Nitrobenzoesäure) photometrisch bestimmt. (Falsch positive Werte werden bei Cystinurie oder bei Gabe von Medikamenten mit Sulfhydrylgruppen wie Penicillamin, DMPS oder Thioridazin erhalten.)

Benötigt werden ca. 10 ml Urin.

Normalbereich:
< 0,074 mMol SH / mMol Kreatinin

8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin

Radikale führen häufig auch zu oxidativen Schäden an der DNA. Dabei wird bevorzugt die Guanin-Base hydroxyliert und ausgetauscht. Das freie 8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin wird unverändert im Urin ausgeschieden und ist ein Maß für die DNA-Schädigung und -Reparatur. Bestimmt wird dieses DNA-

Abbauprodukt mittels HPLC-MS-MS.

Benötigt werden ca. 10 ml Urin, frisch oder tiefgefroren, ohne Zusatz.

Normalbereich:
0,1-8,2 µmol/mol Kreatinin

Entgiftungskapazität

Superoxid dismutase (SOD)

Das kupfer- und zinkabhängige Enzym SOD in Erythrozyten ist in der Lage, freie Sauerstoff-Radikale in neutrale Sauerstoffverbindungen umzuwandeln und damit den Körper vor schädigenden Radikalwirkungen zu schützen.



Die Bestimmung der SOD-Konzentration ist somit ein Maß für die Kapazität der körpereigenen Abwehr von Radikalen.

Benötigt werden 0,5 ml EDTA- oder Heparin-Blut.

Normalbereich:
600 - 1200 U/g Hb

Glutathion peroxidase (GPx)

Diese cytosolische, selenhaltige Glutathionperoxidase trägt zur Entgiftung von Wasserstoffperoxid bei.



Damit gehört dieses Enzym zu den wichtigsten Schutzsystemen des Menschen vor radikalischer Gewebeschädigung. Die Bestimmung der GPx-Aktivität ist ein wichtiger Baustein zur Kontrolle des Gleichgewichts zwischen Radikalentstehung und -abbau.

Benötigt werden 0,5 ml EDTA- oder Heparin-Blut.

Normalbereich:
29,5 - 38,9 U/g Hb

Glutathion-S-Transferase i. Erythrozyten (GST)

Die GST konjugiert halogenierte C₁-Verbindungen mit Glutathion und macht sie damit ausscheidungsfähig. Damit diese Noxen vollständig ausgeschieden werden können, ist eine ausreichende Enzymaktivität notwendig. Diese wird nach der gaschromatographischen Analyse in Prozent eines gesunden Normalkollektivs angegeben.

Benötigt werden ca. 4 ml EDTA- oder Heparin-Blut.

Normalbereich: > 70 %

Anmerkung: Bei verminderter oder grenzwertiger GST-Aktivität sollte die Genotypisierung des Enzyms durchgeführt werden um mögliche Gendefekte zu erkennen.

Benötigt werden ca. 4 ml EDTA-Blut.

P 450-Cytochromoxidase (Coffein-Speichel-Test)

Dieser Test beschreibt die Rate, mit der die leberspezifische P 450-Cytochromoxidase das aufgenommene Coffein demethylieren kann. Die berechnete Coffein-Clearance ist damit ein Indikator für die erste Phase der enzymatischen Entgiftungsfähigkeit, bei der auch hochreaktive Zwischenprodukte z. B. Radikale entstehen.

Näheres entnehmen Sie bitte der Testanleitung auf Seite 4.

Glutathion

Reduziertes Glutathion stellt einen zellulären Sulfhydryl-Puffer dar, der den reduzierten Status von Zellproteinen sicherstellt. Daneben entgiftet Glutathion Hydrogenperoxide unter katalytischer Beteiligung der Glutathion-Peroxidase.

Das gesamte freie Glutathion (GSH + GSSG) wird im EDTA-Blut photometrisch bestimmt.

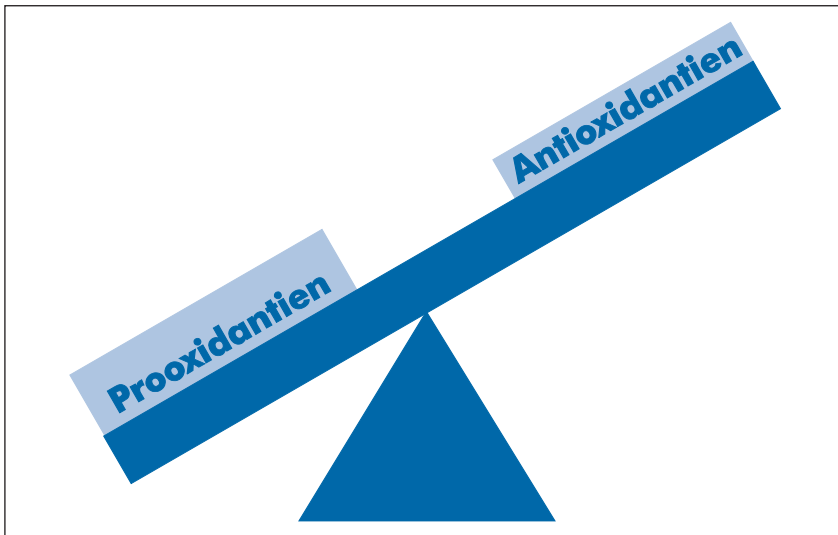


Abb. 2: Oxidativer Stress - eine Verschiebung im Prooxidans-Antioxidans-Gleichgewichts zugunsten der Prooxidantien

Benötigt wird 0,5 ml frisches oder tiefgefrorenes EDTA- bzw. Heparin-Blut.

Normalbereich: 206 - 584 mg/l

Antioxidative Versorgung

Vitamin E

Vitamin E fungiert als Radikalfänger und schützt ungesättigte Fettsäuren vor Oxidation. Bestimmt wird α -Tocopherol mittels HPLC und UV-Detektion.

Benötigt werden 0,5 ml Serum oder Plasma

Normalbereich: 5,0 - 16,0 mg/l

Vitamin C

Vitamin C schützt vor reaktiven Oxidantien durch Abfang von Hydroxy-Radikalen und Superoxid-Anionen. Es ist beteiligt am Cytochrom P 450 Enzymsystem, bei der Entgiftung durch Hydroxylierung und bei der Aktivierung der Superoxid-Dismutase. Vitamin C und E wirken synergistisch beim Schutz vor Lipidperoxidation, indem Tocopherol-Radikale durch Ascorbinsäure wieder zu Vitamin E reduziert werden.

Vitamin C wird mittels HPLC und elektrochemischer Detektion bestimmt.

Benötigt werden 0,5 ml EGTA/GSH-Spezialplasma (1+1), das bei Lagerung und Transport tiefgefroren werden muss, oder 1 ml Serum ohne Zusatz, tiefgefroren.

Normalbereich: 3,0 - 14,0 mg/l (HPLC-Methode)

β -Carotin

Carotinoide haben eine Schutzwirkung gegen Photosensibilisierung durch Abfangen von besonders reaktivem Singulett-Sauerstoff. β -Carotin wird nach Extraktion und HPLC-Trennung bei 460 nm bestimmt.

Benötigt wird 1 ml lichtgeschütztes Serum (Röhrchen i. Aluminiumfolie verpackt)

Normalbereich: 150 - 1250 μ g/l

Coenzym Q₁₀

Coenzym Q₁₀ besitzt neben seiner Funktion bei der zellulären Energieversorgung auch Schutzfunktion bei der Lipid-Peroxidation. Die Bestimmung erfolgt nach Extraktion und HPLC-Trennung mittels UV-Detektion.

Benötigt wird 1 ml lichtgeschütztes Serum (Röhrchen i. Aluminiumfolie verpackt).

Normalbereich: 0,4 - 1,2 mg/l

Siehe auch gesonderte Labor-Information

Selen

Selen ist ein essentielles Spurenelement, das an vielen antioxidativen Reaktionen des Körpers beteiligt ist. Da die therapeutische Breite dieses Metalles relativ gering ist, wird eine regelmäßige Kontrolle des Selen-Spiegels empfohlen, vor allem unter Substitutionstherapie.

Benötigt werden 1 ml Serum.

Normalbereich: 53 - 105 μ g/l

Anmerkung: Bei einer Exposition mit aromatischen Aminen wie z. B. Benzidin und 4,4'-Methylen-bis-(2-chloranilin) (MOCA) empfiehlt sich die Genotypisierung der N-Acetyl-Transferase. Langsame Acetylierer entwickeln häufiger Harnblasentumore, da acetylierte aromatische Amine schlechter hydroxyliert, d. h. zu toxischen Hydroxylaminen umgewandelt werden.

Für diese Analyse werden 2 ml EDTA- oder Heparin-Blut benötigt.

Literatur:

1. Winnefeld K. Antioxydantien und Radikale: Analytik und klinische Bedeutung *J. Lab. Med.* 1996; 20(4): 199-204
2. Marquardt H, Schäfer S G. *Lehrbuch der Toxikologie* B.I.-Wissenschafts Verlag, Mannheim, 1994
3. Hartwig A, Dally H, Schlegel R. Sensitive analysis of oxidative DNA damage *Toxicology Letters* 1996, 88.: 85-90
4. Frenkel K, Klein CB. Methods used for analysis of environmentally damaged nucleic acids *J. Chromatogr.* 1993; 618: 289-314

Coffein-Speichel-Test

zur Überprüfung der P 450-Cytochromoxidase-Aktivität

(1) Führung des/r Patienten/in vor und während des Tests:

12 Std. vor und insbesondere während der Dauer des Coffein-Tests dürfen keine coffeinhaltigen Getränke (z.B. Kaffee, Tee, Coca-Cola o.ä.) oder Nahrungsmittel (z.B. Schokolade) aufgenommen werden, da durch das zusätzlich anflutende Coffein eine sinnvolle Testauswertung unmöglich gemacht würde.

(2) Testablauf

- Röhrchen vorbereiten (Beschriften: „VW“, „2h“, „5h“ und „8h“)
- Speichelabnahme vor Tabletteneinnahme als Vorwert in Röhrchen „VW“
- Tabletteneinnahme (200mg Coffein p. o.; z.B. „Coffeinum 0,2 Compretten“) **genaue Uhrzeit notieren**
- ca. 2 Std. nach Tabletteneinnahme: Speichelabnahme in Röhrchen „2h“; **genaue Uhrzeit notieren**
- ca. 5 Std. nach Tabletteneinnahme: Speichelabnahme in Röhrchen „5h“; **genaue Uhrzeit notieren**
- ca. 8 Std. nach Tabletteneinnahme: Speichelabnahme in Röhrchen „8h“; **genaue Uhrzeit notieren**
- **Körpergewicht** des/r Patienten/in notieren
- Röhrchen mit Begleitpapieren umgehend ans Labor senden. Bis zum Transport kühl lagern.

(3) Bemerkungen zur Technik der Speichelabnahme

Jeweils ca. 15- 20 Min. vor einer Speichelabnahme keine feste Nahrung und Getränke mehr aufnehmen; Mundhöhle durch Schluckbewegungen weitgehend von festen Nahrungsbestandteilen befreien; zum vorgeschriebenen Zeitpunkt der Speichelabnahme (s. Zeitplan oben) wird mit der Speichelsammlung in der Mundhöhle begonnen und der über ca. 1-2 Min. gesammelte Speichel in das entsprechende Röhrchen entleert; für die Coffein-Bestimmung wird ein Volumen von mindesten 0,5 ml pro Röhrchen benötigt.

(4) Bemerkungen zur Befundung

Coffein dient als Modellsubstanz für die Fähigkeit der Leber, Fremdstoffe oxidativ bzw. durch Acetylierung zu entgiften und aus dem Organismus zu entfernen.

Aus dem zeitlichen Verlauf der abfallenden Coffein-Konzentrationen in den Speichelproben lässt sich die Halbwertszeit ($t_{1/2}$) sowie Clearance des Coffeins **Cl (Total)** berechnen und mit den Werten einer Referenz-Population vergleichen.

Die Angaben in der wissenschaftlichen Literatur schwanken dabei je nach untersuchtem Kollektiv; z.B. gibt es für die Cl (Total) einen Referenzbereich von

0,74 - 3,40 ml / min / kg [* Gleiter C.H.,1992*];

0,70 - 1,80 ml / min / kg [* „Great Smokies Diagnostic Laboratory“, USA*].

In einer Studie des „Breakspear Hospitals“, UK, zeigten 9% der Patienten Werte unterhalb und 30% der Patienten Werte oberhalb des Referenz- Bereichs der „Great Smokies Labs“ (s.o.) für die Coffein-Clearance.

(5) Literatur

- Hoffmann A. et al., Z. Klin. Med.46 (3), 229-232 (1991);
- Gleiter C.H., Arzneimitteltherapie 10 (8), 244 ff (1992);
- Balogh A., Int. J. Clin. Pharmacol. Therap. Toxicol., 30, 383 (1992) und 31 (4), 208 (1993);
- Monroe J., Breakspear Hospital, UK, persön. Mitteilungen (1994).